

ТРАНСДУКЦИЯ СИГНАЛА В НЕЙТРОФИЛАХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГАЛОГЕНИРОВАННОГО АЛЬБУМИНА

Горудко И.В.¹, Григорьева Д.В.¹, Шамова Е.В.¹, Соколов А.В.^{2,3},
Костевич В.А.^{2,3}, Панасенко О.М.³, Черенкевич С.Н.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

Нейтрофилы принадлежат к числу центральных участников воспаления, обеспечивающих первичную неспецифическую защиту организма от патогенных микроорганизмов. Важную роль в функционировании нейтрофилов играют продукция активных форм кислорода (АФК), связанная с активацией НАДФН-оксидазного комплекса, и высвобождение в процессе секреторной дегрануляции фермента азурофильных гранул – миелопероксидазы (МПО). МПО катализирует образование гипогалоидных кислот, преимущественно хлорноватистой (НОСІ) и бромноватистой (НОВг), характеризующихся высокой галогенирующей и окислительной активностью [1] и совместно с АФК способствующих разрушению и гибели патогенов. В местах воспаления концентрация НОСІ может достигать миллимолярных значений, достаточных для модификации различных молекул в окружающем пространстве. До недавнего времени окисленные/галогенированные липиды, белки и липопротеины крови рассматривали в качестве чувствительных маркеров развития окислительного стресса и повреждения при патологических процессах. В последние годы стало ясно, что молекулы, модифицированные с участием АФК и гипогалоидных кислот, могут выступать регуляторами трансдукции сигнала в иммунных клетках [2,3,4]. Целью данной работы явилось исследование регуляторных функций галогенированного альбумина сыворотки человека (ЧСА), образующегося в реакциях с НОСІ/НОВг, синтез которых катализирует МПО.

ЧСА, модифицированный НОСІ или НОВг, получали путем смешивания равных объемов растворов ЧСА (0,3 мМ) и НОСІ/НОВг (30 мМ). Степень модификации ЧСА контролировали по снижению интенсивности собственной флуоресценции ($\lambda_{\text{возб.}}=285$ нм, $\lambda_{\text{исп.}}=340$ нм), обусловленному деструкцией остатков триптофана в составе белка.

Показано, что альбумин, модифицированный гипогалоидными кислотами, активирует НАДФН-оксидазу нейтрофилов, инициируя продукцию ими H_2O_2 и $\cdot\text{O}_2^-$, а также стимулирует экзоцитоз азурофильных и специфических гранул нейтрофилов, который оценивали по выходу из клеток МПО и лактоферрина, соответственно. Ингибитор тирозинкиназ

генестеин (100 мкМ) и ингибитор фосфотидилинозитол-3-киназы вортманнин (100 нМ) на 30 % и 40 %, соответственно, снижали продукцию H_2O_2 нейтрофилами и на 20 % и 30 % ингибировали экзоцитоз МПО. Активация НАДФН-оксидазы и дегрануляция нейтрофилов в ответ на галогенированный альбумин снижались также в присутствии моноклональных антител к CD18 – β -субъединице β_2 -интегрина нейтрофилов.

С применением электронной сканирующей микроскопии показано, что при действии галогенированного альбумина форма нейтрофилов менялась по сравнению с контрольными клетками, которые имели округлую форму. Методом лазерной конфокальной микроскопии с применением флуоресцентного красителя флуоресцеин-фаллоидина к F-актину выявлено, что у большинства клеток появлялись псевдоподии, свидетельствующие о реорганизации цитоскелета.

В итоге можно заключить, что галогенированный альбумин, взаимодействуя с β_2 -интегринами нейтрофилов, активируя тирозинкиназы, фосфотидилинозитол-3-киназы и реорганизацию цитоскелета, инициирует дегрануляцию и продукцию активных форм кислорода нейтрофилами, действуя в очагах воспаления по принципу положительной обратной связи. Таким образом, галогенированный альбумин является важным классом биологически активных веществ и модуляторов воспалительных ответов.

Работа поддержана БРФФИ (грант Б14Р-035) и РФФИ (грант 14-04-00807, 14-04-90007 и 15-34-50014).

Литература:

1. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. *Успехи биол. химии*. 2013. Т. 53. С. 195-244 (<http://www.inbi.ras.ru/ubkh/53/Panasenko.pdf>).
2. Sokolov A.V., Kostevich V.A., Runova O.L., Gorudko I.V., Vasilyev V.B., Cherenkevich S.N., Panasenko O.M. *Chem. Phys. Lipids*. 2014. V. 180. P. 72-80.
3. Михальчик Е.В., Смолина Н.В., Астамирова Т.С., Горудко И.В., Григорьева Д.В., Иванов В.А., Соколов А.В., Костевич В.А., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. *Биофизика*. 2013. Т. 58. С. 681-689.
4. Горудко И.В., Вахрушева Т.В., Мухортова А.В., Черенкевич С.Н., Тимошенко А.В., Сергиенко В.И., Панасенко О.М. *Биол. мембраны*. 2010. Т.27, №4. С. 314-324.